植物保護

台灣引起非典型病徵之柑橘潰瘍病菌特性分析

私立中州技術學院生技系 林信成
農試所生技組 張翔　國立中興大學植病系 曾國欽

一、前言

（一）柑橘潰瘍病之重要性

全世界有80多個國家栽培柑橘，栽種面積已達1.185億畝，每年柑橘之國際年貿易額高達65億美元，為第三大國際貿易農產品僅次於小麥和玉米。在柑橘作物病害中潰瘍病為重要而具破壞性的一種細菌病害，而為各國檢防疫單位所重視的病害。柑橘潰瘍病係由*Xanthomonas campestris* pv. *citri*（圖一）所引起，可危害柑橘葉片、枝條及果實，病害嚴重時，葉片大量脫落，使樹勢衰弱，對柑橘之產量及品質影響甚鉅，造成經濟上很大的損失。柑橘潰瘍病可藉由枯木、幼苗及果實的進出口將病原菌傳播到其他非疫區的國家或地區。最早起源於南亞的印度，接著逐漸擴散至亞洲、南非、中非、中東、澳大利亞、紐西蘭、太平洋島嶼、南美洲及北美洲等地區，雖然目前在這些地區國家的柑橘潰瘍病已陸續被剷除或正進行剷除的計畫，但是柑橘潰瘍病在這些國家或地區仍存在著可能爆發流行的風險，以美國的佛羅里達州為例，佛羅里達州為美國最大柑橘生產地，約佔全美77%的柑橘產量。然而近年來發生之柑橘潰瘍病已衝擊佛州總值85億美元的柑橘商業市場，並直接或間接影響到當地10多萬個工作機會。柑橘潰瘍病在台灣所栽植的葡萄柚，甜橙，檸檬等作物上普遍發生，危害嚴重，亦為台灣柑橘栽培管理上之重要病害。

圖一、柑橘潰瘍病菌在馬鈴薯葡萄糖瓊酯培養基（PDA）上所形成之菌落。

作　　者：林助理教授信成
連絡電話：04-8311498-4210

（二）柑橘潰瘍病菌之病原型

柑橘潰瘍病菌菌株間病原性具差異性，依其對不同柑橘品種之差異性可將柑橘潰瘍病菌區分為五個病原型 (pathotype)：A病原型主要分佈於亞洲；B病原型分佈於阿根廷、巴拉圭、烏拉圭；C病原型分佈於巴西；D病原型分佈於墨西哥，其病原性與C病原型相似，然僅在葉片及枝條上形成病斑；上述四病原型菌株皆可使罹病葉片產生突起、木栓化、外圍具有黃暈的病斑，其中A病原型分佈較廣，也最具經濟重要性；而E病原型分佈於美國佛羅里達州，在葉片、枝條、及果實上只形成扁平水浸狀斑點。Vauterin 等人於1995年將柑橘潰瘍病菌的五種病原型重新命名為：*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (原*X. campestris* pv. *citri* A病原型)；*Xanthomonas axonopodis* pv. *aurantifolii* (原*X. campestris* pv. *citri* B,C,D病原型)；*Xanthomonas axonopodis* pv. *citrumelo* (原*X. campestris* pv. *citri* E病原型)。

Verniere等人在西南亞地區由墨西哥萊姆植株所分離到的部份菌株，將其接種到葡萄柚葉片後，可在葡萄柚葉片只產生似水痘病斑或扁平壞疽病斑，但是在墨西哥萊姆上則仍產生典型的潰瘍病斑，這些菌株命名為A* 有別於A病原型菌株；此外Sun等人在佛羅里達州分離到在葡萄柚葉片上會產生扁平壞疽病斑，但是在墨西哥萊姆上仍產生典型的潰瘍病斑之菌株，其寄主範圍僅侷限在墨西哥萊姆，並將此菌株命名為A^w ；並且認為由西南亞地區國家及佛羅里達州所分離到的A*與A^w 菌株為*Xac*-A病原型的亞群 (subgroup) ，其寄主範圍係屬於窄寄主範圍菌群 (narrow-host-range strains)，有別於廣寄主範圍菌群 (wild-host-range strains) 之A病原型菌株。

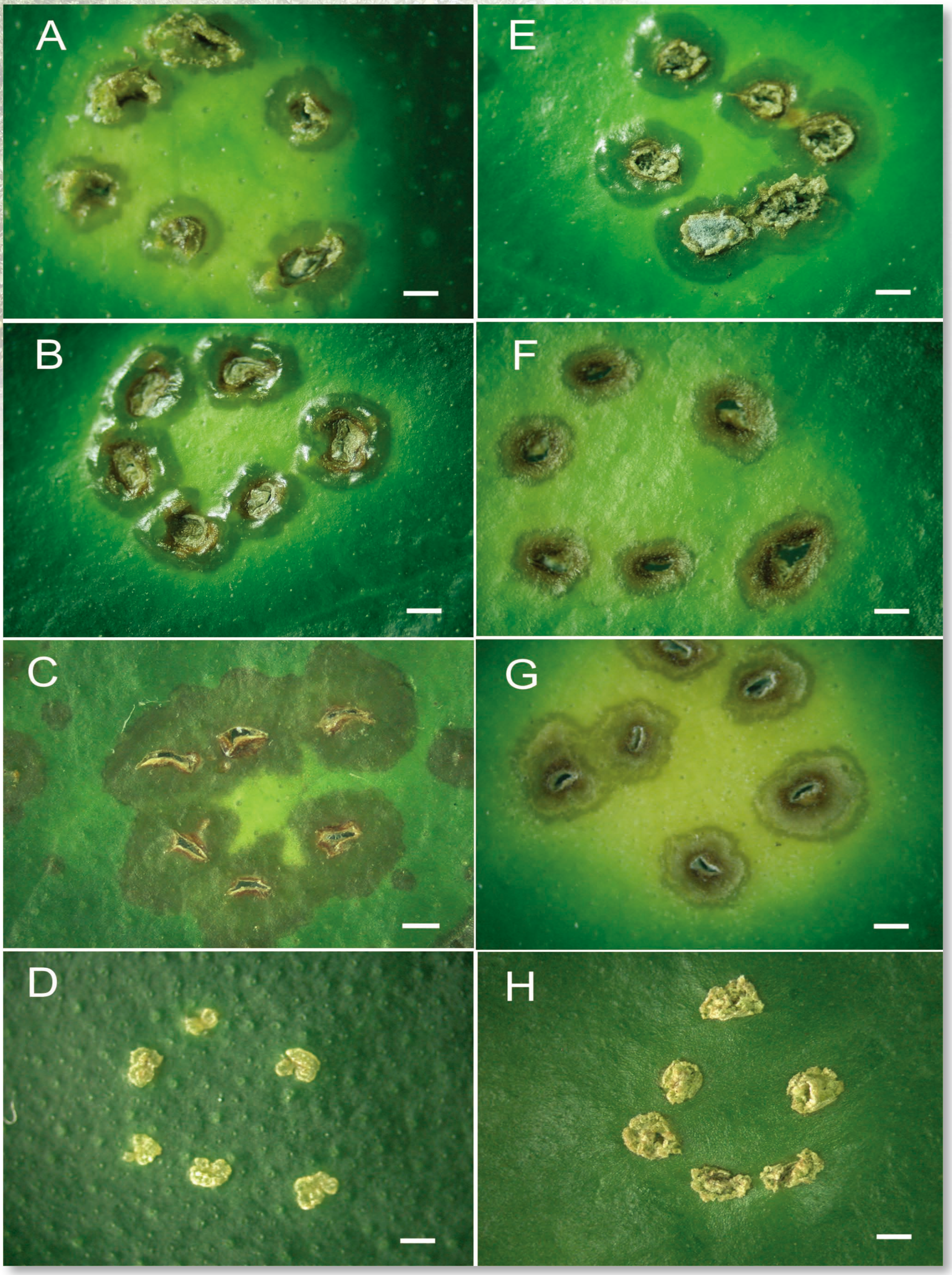
二、台灣柑橘潰瘍病菌病原性之差異性分析

（一）病原性測試

將台灣分離到之柑橘潰瘍病菌菌株，利用針傷接種測試其在墨西哥萊姆、葡萄柚、柳橙及檸檬等四種不同柑橘品種之葉片上的病原性。依其在四種柑橘植株葉片上所引起之病徵，可將其分成A、A^f、A^p及A^r等四種類型之菌株，其中有93.5% 株菌株屬於A類型菌株，可在測試之四種柑橘植株葉片上引起裂開突起並具有水浸狀邊緣之典型潰瘍病斑(圖二A及E)。而其他菌株則分別屬於引起非典型病徵之A^f、A^p及A^r 類型菌株；其中A^f 類型菌株XW47，雖然在墨西哥萊姆上可引起裂開突起，且具水浸狀邊緣之典型潰瘍病斑(圖二B)，然而在葡萄柚、柳橙及檸檬葉片上，則引起具水浸狀邊緣之扁平壞疽病斑(圖二F)；A^p 類型菌株XL38可在測試之四種柑橘植株葉片上，引起具水浸狀邊緣之扁平壞疽病斑(圖二C及G)；而A^r 類型菌株XW121，在測試之四種柑橘葉片上，則會引起不具水浸狀邊緣之木栓化突起之細小病斑 (圖二D及H)。其中A^f 類型菌株所引起的病徵與由西南亞地區所分離到之A*第二類型菌株及由佛羅里達所分離到之A^w 菌株相類似，而A^p 類型菌株所引起的病徵與美國佛羅里達州所分離到之*Xanthomonas axonopodis* pv. *citrumelo* (E病原型)相似，然而國際間目前尚未有與A^r 類型菌株相類菌株之報導。

（二）生理生化特性分析

比較A、A^f、A^p 及A^r 等四種類型菌株之耐鹽性、明膠水解作用及對主要碳素源利用情形，結果顯示A^f、A^p及A^r 三類型菌株之生理及生化特性分析與A類型菌株相似。然A類型菌株與A^f及A^p 類



圖二、台灣不同類型之柑橘潰瘍病菌在墨西哥萊姆及葡萄柚葉片上之病徵。A&E：A類型菌株XW19可在墨西哥萊姆及葡萄柚葉片上，引起裂開突起並具有水浸狀邊緣之典型潰瘍病斑；B：A^{f}類型菌株XW47在墨西哥萊姆葉片上引起裂開突起且具水浸狀邊緣之典型潰瘍病斑；F：A^{f}類型菌株XW47在葡萄柚葉片上引起具水浸狀邊緣之扁平壞疽病斑；C&G：A^{p}類型菌株XL38在墨西哥萊姆及葡萄柚葉片上引起具水浸狀邊緣之扁平壞疽病斑；D&H：A^{r}類型菌株XW121在墨西哥萊姆及葡萄柚葉片上引起不具水浸狀邊緣之木栓化突起小病斑。(比例尺長度=1mm)

型菌株均會利用N-acetyl-D-glucosamine, acetic acid, malonic acid and propionic acid 等碳素源，但是A^{r}類型菌株則無法或僅微弱利用此四種碳素源。因此此四種碳素源的利用情形可作為鑑別A^{r}類型柑橘潰瘍病菌菌株的依據；此外利用Hildebrand's medium測試A、A^{f}、A^{p}及A^{r}等四種類型菌株的果膠分解能力，顯A、A^{f}及A^{p}等三種類型示菌株均具有果膠分解能力；然而A^{r}類型菌株則不具有果膠分解能力。

（三）遺傳特性分析

利用柑橘潰瘍病菌之專一性引子對(2/3、4/7、*J-pth1/J-pth2*、*J-RXg/J-RXc2*、XCF/XCR)進行聚合酵素連鎖反應，結果顯示A、A^{f}、A^{p}及A^{r}等四種類型菌株均可增幅出其專一性片段，利用*lrp*基因的序列分析，可將由西南亞地區所分離到之A*菌株及由佛羅里達所分離到之A^{w}菌株，與台灣所分離到會引起非典型病徵之A^{f}、A^{p}及A^{r}類型菌株區分開，此外利用pthAP7/pthAR2引子對，針對A、A^{f}、A^{p}、A^{r}及A* 類型菌株進行PCR增幅作用，則A*菌株所呈現之DNA圖譜明顯不同於A、A^{f}、A^{p}及A^{r}菌株之DNA圖譜。綜上所述，經由生理生化及遺傳特性分析得知由台灣分離到可引起非典型病徵之A^{f}、A^{p}及A^{r}菌株，為*X. axonopodis* pv. *citri* 之新特殊菌株，有別於國外所分離到之A*及A^{w}類型菌株。

（四）農民田間防治建議

雖然台灣柑橘潰瘍病菌菌株之病原性存在著差異性，但防治此病害可種植無病幼苗、剪除發病枝條、育成健康植株、清除雜草及防治潛夜蛾等措施之外，農民可在發病初期使用波爾多可濕性粉劑、氧化亞銅可濕性粉劑或嘉賜銅可濕性粉劑進行防治。

三、結語

台灣柑橘潰瘍病菌菌株中大部分仍屬於會引起典型潰瘍病徵之A類型菌株，而有關會引起非典型病徵之A^{f}、A^{p}及A^{r}類型菌株在生態上所扮演之角色，及不同類型柑橘潰瘍病菌菌株與寄主之間作用機制的探討是值得進一步研究，以作為日後進一步探討其流行病學及其對病害管理影響之基礎。

四、參考文獻

Schubert, T. S., S. A. Rizvi, X. Sun, T. R. Gottwald, J. H. Graham, and W. N. Dixon. 2001. Meeting the challenge of eradicating citrus canker in Florida-again. Plant Dis. 85:340-356.

Sun, X., R. E. Stall, J. B. Jones, J. Cubero, T. R. Gottwald, J. H. Graham, W. N. Dixon, T. S. Schubert, P. H. Chaloux, V. K. Stromberg, G. H. Lacy, and B. D. Sutton. 2004. Detection and characterization of a new strain of citrus canker bacteria from Key/Mexican lime and alemow in South Florida. Plant Dis. 88:1179-1188.

Vauterin, L., B. Hoste, K. Kersters, and J. Swings. 1995. Reclassification of Xanthomonas. Int. J. Syst. Bacteriol. 45:472-489.

Verniere, C., J. S. Hartung, O. P. Pruvost, E. L. Civerolo, A. M. Alvarez, P. Maestri, and J. Luisetti. 1998. Characterization of phenotypically distinct strains of Xanthomonas axonopodis pv. citri from Southwest Asia. Eur. J. Plant Pathol. 104:477-487.